

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：34414

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06883

研究課題名（和文）神経細胞-グリア間細胞膜融合を介した新たなミトコンドリア品質維持機能の解明

研究課題名（英文）Roles of NG2 glia in maintenance of mitochondrial integrity in neurons

研究代表者

田村 泰久（YASUHISA, TAMURA）

大阪大谷大学・薬学部・教授

研究者番号：60446523

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：近年、神経細胞のミトコンドリア機能の破綻が神経変性疾患の発症に関わる可能性が示唆されている。したがって、神経機能の維持には神経細胞におけるミトコンドリア品質保持が重要である。本申請研究では、細胞膜融合を介したNG2グリアからのミトコンドリア供給システムが神経細胞での新たなミトコンドリア品質維持機構となりうるかについて検討した。神経炎症誘発モデルにおける神経細胞ミトコンドリア障害に対し、NG2グリアは神経細胞へのミトコンドリア輸送を亢進させることを見出した。これらの結果は、NG2グリアが神経細胞でのミトコンドリア品質維持機構を介して神経保護作用を示すことを示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、NG2グリアが細胞膜融合を介したミトコンドリア供給により神経細胞でのミトコンドリア品質維持に関わるという成体脳での新たな役割を見出すことに成功した。これらの成果は、神経変性疾患の病態解明や新たな治療法開発の一助となりうる情報を提供するものであると考える。

研究成果の概要（英文）：Recently, mitochondrial dysfunction in neurons is related with pathogenesis of neurodegenerative diseases. The maintenance of mitochondrial integrity in neurons is important to preserve neuronal function. This study investigated whether NG2 glia is concerned with maintaining of mitochondrial function in neurons. We showed that NG2 glia is related with maintenance of mitochondrial integrity in neurons via mitochondrial transfer through membrane fusion.

研究分野：神経科学

キーワード：ミトコンドリア ニューロン NG2グリア 細胞膜融合

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリアは、細胞内エネルギーの産生場としてだけでなく、細胞死(アポトーシス)誘導にも関与し、細胞の生存や死の制御において重要な役割を担っている。

近年、神経細胞のミトコンドリアの品質管理システムの破綻が神経変性疾患の発症に関わる可能性が示唆されている。実際、不良ミトコンドリアの蓄積が神経細胞死を引き起こすことも明らかになりつつある。したがって、神経細胞におけるミトコンドリア品質管理システムの理解およびその制御は神経機能の保全や神経変性疾患の新たな治療ターゲット探索へと繋がると考えられる。神経細胞でのミトコンドリア品質管理システムとしては、オートファジー機構がよく知られているが、別の機構(経路)が存在するののかについては明らかでない。

これまでに我々は、広域走査型電子顕微鏡システムを用いた3D再構成画像解析から、ごく少数の神経細胞がNG2グリアと細胞膜融合していること、さらにその細胞膜融合によりできたポアを介したミトコンドリア輸送の可能性を示唆するデータを見出していた。

2. 研究の目的

本申請研究では、神経細胞 - NG2グリアの細胞膜融合を介したミトコンドリア輸送が神経細胞における新たなミトコンドリア処理システムとなりうるのか、そして神経機能の保全に繋がるのかについて検証することを目的とする。

3. 研究の方法

実験 神経細胞 - NG2グリア間におけるミトコンドリア輸送の有無を調べるとともに、その方向性(一方向性または双方向性)について検討する

神経細胞選択的マーカー(CaMk2a-creERT2, Madisen et al., Nat Neurosci 2010) creマウスおよびNG2グリア選択的(NG2-creERT2, Zhu et al., Development, 2011) creマウスとミトコンドリア特異的蛍光タンパク質発現(floxMito-EGFP, Abe et al., genesis, 2011) floxマウスとの交配により、各遺伝子改変マウス(CaMk/Mito-EGFPおよびNG2/Mito-EGFP)を作製する。これらの遺伝子改変マウスはタモキシフェン誘導性Cre/loxPシステムを作動させることにより、神経細胞またはNG2グリア細胞のミトコンドリアをそれぞれ選択的にEGFPラベル化し、可視化することが可能な動物である。

これら遺伝子改変マウスを用いて、EGFPラベル化ミトコンドリアの動態解析を実施することでお互いの細胞へのミトコンドリアの輸送の有無を検証し、神経細胞 - NG2グリア間のミトコンドリア輸送が一方向性なのか双方向性なのかについて調べた。

実験 神経炎症に伴うミトコンドリア障害モデルにおけるNG2グリアによるミトコンドリア輸送を介した神経保護作用の可能性について

の結果を踏まえて、LPS腹腔内投与することで、神経炎症を惹起させ、神経細胞内でのミトコンドリア障害モデル作製することが可能である(Harland et al., J. Neurosci. 2020)。

そこで、両遺伝子改変(CaMk/Mito-EGFPおよびNG2/Mito-EGFP)マウスにLPSを投与し、神経細胞でのミトコンドリア障害を誘発し、各マウスでのミトコンドリア動態の変化について解析した。

4. 研究成果

実験

まず、各遺伝子改変(CaMk/Mito-EGFPおよびNG2/Mito-EGFP)マウスにおいて、タモキシフェン投与直後でのEGFPシグナルの局在について検討した。EGFPシグナルは各細胞選択的に観察されることを確認した。さらに、これらのEGFPシグナルがミトコンドリアであることを検証するために、ミトコンドリアマーカーとの共染色実験を実施し、実際にミトコンドリアであることも確認した。

これらの結果を踏まえ、次に各遺伝子改変(CaMk/Mito-EGFPおよびNG2/Mito-EGFP)マウスにタモキシフェン投与4~7日後に、EGFPシグナル(ミトコンドリア)動態を解析したところ、CaMk/Mito-EGFPマウスでのEGFPシグナルの一部がNG2グリアの細胞内に、一方、NG2/Mito-EGFPマウスでのEGFPシグナルがNeuN陽性神経細胞の細胞体に存在することを見出した。これらの結果は、ごく一部の神経細胞とNG2グリア間において、ミトコンドリアの交換輸送が行われている可能性を示した。

実験

まず、CaMk/Mito-EGFPマウスでのEGFPラベルされた神経細胞由来ミトコンドリアが神経細胞の細胞体から樹状突起へと多数移動していることに加え、NG2グリアへの移動も非投与群と比較して亢進していることを見出した。また、NG2/Mito-EGFPマウスでのEGFPラベルされたNG2グリア由来ミトコンドリアが神経細胞への輸送も亢進していることを見出した。これらは神経細胞

が障害ミトコンドリアを NG2 グリアへと移動させることで処理するとともに、NG2 グリアからミトコンドリア供給を受ける可能性を示した。

以上の結果は、NG2 グリアが神経細胞でのミトコンドリア品質維持機構を介して神経保護作用に寄与する可能性を示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Tamura Y, Yamato M, Kataoka Y.	4. 巻 13
2. 論文標題 Animal Models for Neuroinflammation and Potential Treatment Methods	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 890217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fneur.2022.890217.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tamura Y, Takata K, Matsubara K, Kataoka Y.	4. 巻 13
2. 論文標題 Alpha-glycerylphosphoryl choline increases motivation in healthy volunteers: A single-blind, randomized, placebo-controlled human study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2091
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu13062091.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tamura Y, Takata K, Eguchi A, Maeda M, Kataoka Y.	4. 巻 16
2. 論文標題 Age-related changes in NG2-expressing telocytes of rat stomach	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0249729
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0249729.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 田村泰久、片岡洋祐	4. 巻 15
2. 論文標題 神経炎症におけるグリア細胞の役割	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本疲労学会誌	6. 最初と最後の頁 7-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 片岡洋祐、田村泰久	4. 巻 72
2. 論文標題 中枢神経炎症制御とNG2グリア	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 416-418
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tamura Yasuhisa, Takata Kumi, Eguchi Asami, Maeda Mitsuyo, Kataoka Yosky	4. 巻 16
2. 論文標題 Age-related changes in NG2-expressing telocytes of rat stomach	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0249729
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0249729. eCollection 2021.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tamura Yasuhisa, Takata Kumi, Eguchi Asami, Kataoka Yosky	4. 巻 21
2. 論文標題 Selective Elimination of NG2-Expressing Hair Follicle Stem Cells Exacerbates the Sensitization Phase of Contact Dermatitis in a Transgenic Rat Model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 6922 ~ 6922
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21186922.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 田村泰久、片岡洋祐	4. 巻 93
2. 論文標題 炎症制御を介した神経保護に関わるグリア	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 脳神経内科	6. 最初と最後の頁 397-402
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田村 泰久
2. 発表標題 神経炎症におけるNG2グリアの役割
3. 学会等名 第16回日本疲労学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yasuhisa Tamura, Kumi Takata, Asami Eguchi, Yosky Kataoka
2. 発表標題 NG2 glia are associated with neuroinflammation in adult rat brain.
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------